

мышц. Под влиянием стресса возрастает высвобождение не только эндотелиального NO, но и роль Kir калиевых каналов гладкомышечных клеток.

Литература

1. Edwards G., R.R. Gillian, M.J. Gardener et al. Roles of the inward-rectifier K^+ channel and Na^+/K^+ -ATP-ase in the hyperpolarization to K^+ in rat mesenteric arteries // EDHF 2002. – 2003 – P.309-317.
2. Koch M.A., Hasser E.M., Schadt J.C. Influence of nitric oxide on the hemodynamic response to hemorrhage in conscious rabbits // Am. J. Physiol. – 1995.
3. Mitsuhashi H., Takeuchi H., Saitoh J. et al. An inhibitor of nitric oxide synthase, N(omega)-nitro-L-arginine-methyl ester, attenuates hypotension but does not improve cardiac depression in anaphylaxis in dogs // Shock. – 1995. - Vol.3. - P.447-453.
4. Блатнер Р., Классен Х., Денерт Х. и др. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц // М.:Мир. - 1983.- С.208.. - Vol.37. – P.R171-R182.
5. Ванин А.Ф., Манухина Е.Б., Лапшин А.В. и др. Усиление синтеза оксида азота в стенке аорты при экспериментальном инфаркте миокарда // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993б. - №8. - С.142-144.
6. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Микоян В.Д. и др. Увеличение продукции оксида азота в органах крысы при тепловом шоке // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1996б. - №5. - С.520-523
7. Солодков А.П., Божко А.П. К механизму влияния малых доз тиреоидных гормонов на стрессорные изменения тонуса сосудов // Физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 1995. – Т.81, №12. – С.95-100.
8. Стокле Ж.-К., Мюллер Б., Андрианцитохайна Р., Клещев А. Гиперпродукция оксида азота в патофизиологии кровеносных сосудов // Биохимия. – 1998. – Т.7. – С.976-983.
9. Ульяновский Л.С., Медведев О.С., Бунятян А.М. и др. Изменение гемодинамики при иммобилизационном стрессе // Бюлл. эксперим. биол. мед.- 1985.- N 9.- С.262-265.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ОКСИДА АЗОТА В ПОВРЕЖДЕНИИ ЭНДОТЕЛИЯ У КРЫС С ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРFUЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Максимович Н. Е.

Государственный медицинский университет, г. Гродно

The contribution of neuronal and extraneuronal sources of nitric oxide in morphological injury of endothelium in rats with brain ischemia-reperfusion was

investigated. L-Arginine and inhibitors of NO-synthase: nonselective inhibitor L-NAME, selective inhibitor neuronal NOS (nNOS) - 7-nitro-Indazole (7-NI) and selective inhibitor inducible NOS (iNOS) S-Methylisothiourea (S-MT) were used. We found that nNOS-derived NO is responsible for morphological injury of endothelium in the early period of ischemia-reperfusion, whereas iNOS-derived NO contributes to these processes in the late period.

The depression of endothelial NOS increases damage of endothelium in brain ischemia-reperfusion, whereas use of the donor NO L-Arginine decreases it. Maximal corrective effect on systems endothelium injury was obtained with combined use of L-Arginine, 7-nitro-Indazole and S-Methylisothiourea.

Установлено, что реперфузионные процессы, возникающие после ишемического периода в различных органах являются причиной морфологического повреждения внутренней поверхности стенки сосудов и развития дисфункции эндотелия системного характера [1]. Наряду с существующими представлениями об участии в патогенезе системной дисфункции эндотелия активных форм кислорода весьма актуален вопрос о возможном участии оксида азота в реализации механизмов повреждения эндотелиоцитов [2,3].

В литературе недостаточно сведений, раскрывающих роль оксида азота (NO) эндотелиального, нейронального и макрофагального происхождения в реализации повреждения эндотелия при постишемическом реперфузионном синдроме.

Целью работы является исследование роли оксида азота нейронального и экстранейронального происхождения в повреждении эндотелия у крыс с постишемическим реперфузионным синдромом головного мозга путем использования селективных модуляторов пути «L-Аргинин – NO».

Материалы и методы исследований.

Состояние целостности эндотелиального пласта сосудов изучали по количеству циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) в системном кровотоке методом микроскопии [1,6].

Исследование проведено на 128 белых, бежих беспородных крысах-самцах массой 220-250 г (8 групп по 16 крыс в каждой группе) в условиях модуляции пути «L-Аргинин – NO». Модуляцию пути «L-Аргинин – NO» осуществляли ингибиторами и активаторами синтеза NO [4]. Эксперименты выполнены в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-60 мг/кг).

Крысам первой группы (ложнооперированные крысы – контроль-1) вводили изотонический раствор NaCl (0,5 мл). Исследования у крыс контрольной группы производили через 30 минут (n=8) и 24 часа (n=8) после выполнения ложной операции. У крыс остальных 2-8-й групп

моделировали транзиторную двухстороннюю ишемию головного мозга (ИГМ) путем получасовой окклюзии общих сонных артерий с последующей 30 минутной или 24-х часовой реперфузией (ишемия-реперфузия головного мозга, И/РГМ) [5].

Крысы второй группы получали 0,5мл изотонического раствора NaCl, третьей группы - субстрат для образования NO - аминокислоту L-Аргинин (150мг/кг), четвертой группы - неселективный ингибитор NO-синтазы - N ω -nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) в дозе 5мг/кг, пятой группы - селективный ингибитор нейрональной NO-синтазы - 7-nitro-Indazole (7-NI) в дозе 10 мг/кг, шестой группы - селективный ингибитор индуцибельной NO-синтазы S-Methylisothiourea (S-MT) в дозе 1мг/кг, седьмой группы - селективные ингибиторы нейрональной (7-NI) и индуцибельной (S-MT) NO-синтаз, восьмой группы – 7-NI, S-MT и L-Аргинин в аналогичных дозах. Препараты вводили в бедренную вену непосредственно после окклюзии общих сонных артерий.

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что у крыс с синдромом И/РГМ (группа 2) количество ЦЭК в ранний реперфузионный период составило $87 \pm 2,0$ /мл ($p < 0,001$) (в контроле - $49 \pm 1,6$ /мл), а в поздний (через 24 часа реперфузии) период - $182 \pm 8,7$ /мл ($p < 0,001$) (в контроле - $51 \pm 1,1$ /мл), что свидетельствует о структурном повреждении эндотелия системных сосудов при синдроме ишемия-реперфузия головного мозга.

В группе 3 (с введением L-Аргинина) количество ЦЭК в ранний реперфузионный период составило $71,3 \pm 1,86$ /мл ($p < 0,001$), а через 24 часа реперфузии - $113 \pm 8,5$ /мл ($p < 0,001$), что меньше по сравнению с количеством ЦЭК у крыс с И/РГМ, которым данный препарат не вводили.

Количество ЦЭК у крыс 4-й группы (с введением L-NAME) по сравнению со второй группой крыс увеличилось и составило в ранний реперфузионный период - $110,3 \pm 4,1$ /мл ($p < 0,001$), а через 24 часа реперфузии - 235 ± 11 /мл ($p < 0,001$). Таким образом введение L-NAME, обладающего ингибиторным действием на eNOS и pNOS, усиливает процессы десквамации эндотелия у крыс с И/РГМ.

Введение ингибитора нейрональной NO-синтазы 7-NI крысам 5 группы (по сравнению со 2-й группой) приводило к уменьшению количества ЦЭК в ранний реперфузионный период до $73 \pm 2,4$ /мл ($p < 0,001$), а через 24 часа реперфузии - до $127,4 \pm 4$ /мл ($p < 0,001$).

При введении крысам 6-й группы ингибитора индуцибельной NO-синтазы S-Methylthiourea количество ЦЭК в ранний реперфузионный период не отличалось от их количества у крыс контрольной группы,

составив $93 \pm 1,3/\text{мл}$ ($p > 0,05$), а через 24 часа реперфузии - $91 \pm 4,6/\text{мл}$, что меньше, чем в группе крыс с И/РГМ ($p < 0,001$).

У крыс 7-й группы, получавших 7-NI и S-MT, количество ЦЭК в ранний реперфузионный период составило $70 \pm 3,9/\text{мл}$ ($p < 0,001$), а через 24 часа реперфузии - $80 \pm 3,0/\text{мл}$, что меньше, чем во 2-й группе ($p < 0,001$).

Крысам 8-й группы осуществляли сочетанное введение 7-NI, S-MT и L-Аргинина. Количество ЦЭК в ранний реперфузионный период у крыс данной группы в ранний реперфузионный период составило $47 \pm 3,5/\text{мл}$ ($p < 0,001$), а через 24 часа реперфузии - $72 \pm 3,4/\text{мл}$, что значительно меньше, чем в других экспериментальных группах, которым вводили модуляторы пути «L-Аргинин - NO» ($p < 0,001$).

Таким образом, полученные у крыс с постишемическим реперфузионным синдромом результаты по изучению степени десквамации эндотелия на фоне использования селективных и неселективных ингибиторов NOS свидетельствуют о следующем: 1. Угнетение эндотелиальной продукции оксида азота, наблюдающееся при введении L-NAME, является неблагоприятным, так как усиливает степень десквамации эндотелия. 2. Ингибирование избыточного образования NO нейронального и макрофагального происхождения путем использования 7-NI и S-MT при реперфузии головного мозга уменьшает десквамацию эндотелия системных сосудов, а дополнительное введение животным данной группы L-Аргинина еще больше усиливает цитопротекторный эффект на эндотелий вышеуказанных ингибиторов.

Таким образом предполагается, что избыточная активность нейрональной и индуцибельной NO-синтаз оказывает неблагоприятное влияние на состояние эндотелия системных сосудов при реперфузии, в то время как оксид азота эндотелиального происхождения оказывает на эндотелий положительный цитопротекторный эффект.

Полученные результаты могут представлять интерес при усовершенствовании схем терапии у больных с реперфузионными повреждениями головного мозга.

Литература

1. Власов Т. Д. Системные нарушения микроциркуляции как следствие органной постишемической реперфузии// Сб. Науч. Трудов «Патофизиология микроциркуляции и гемостаза».- Санкт-Петербург.- 1998.- С.90-106.
2. Busse R., Fleming I. The endothelial organ// Curr. Opinion Cardiol.-1993.- Vol.8.- P.719-727.
3. Dawson T.M., Dawson V.L., Snyder S.H. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical, nitric oxide// Ann. Neurol.-1992.- Vol.32(3).- P. 297-311.

4. Griffith O.W., Kilbourn R.G. Nitric oxide synthase inhibitors: amino acids// Methods in Enzymology.-1996.- Vol.268.-P.375-392.
5. Hossman K. A. Experimental models for the investigation of brain ischemia// Cardiovascular Resarch 1998.- Vol.39.- P. 106-120.
6. Sinzinger H., Virgolini J., Fitscha P. et al. Stabilization of endothelial lining and decrease in circulation endothelial cells// Br. J. Pharmacol. Vol. 25.- 1988.- P. 775-776.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ОКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ НАРУШЕНИЙ ЭНДОТЕЛИЙ ЗАВИСИМОЙ ДИЛАТАЦИИ АОРТЫ У КРЫС С РЕПЕРFUЗИОННЫМ СИНДРОМОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Максимович Н. Е.

Государственный медицинский университет, г. Гродно

The contribution of neuronal and extraneuronal sources of nitric oxide in development of systemic endothelial dysfunction in rats with brain ischemia-reperfusion was investigated. L-Arginine and inhibitors of NO-synthasa: nonselective inhibitor L-NAME, selective inhibitor neuronal NOS (nNOS) - 7-nitro-Indazole (7-NI) and selective inhibitor inducible NOS (iNOS) S-Methylisothiurea (S-MT) were used. We found that nNOS-derived NO is responsible for development of systemic endothelium dysfunction in the early period of the reperfusion, whereas iNOS-derived NO contributes to these processes in the late period. The depression of endothelial NOS increases disfunction of endothelium in brain ischemia-reperfusion, whereas use of the donor NO L-Arginine decreases it. Maximal corrective effect on system dysfunction of endothelium was obtained with combined use of L-Arginine, 7-nitro-Indazole and S-Methylisothiurea.

Одним из механизмов системной дисфункции эндотелия являются реперфузионные процессы, возникающие после тромболитической терапии, хирургического либо самопроизвольного восстановления кровотока [1]. Согласно существующим представлениям повреждение эндотелия при реперфузионном синдроме возникает под влиянием активных форм кислорода, одной из которых является оксид азота (NO) [2].

Доказано, что NO в мозге образуется при участии трех видов NO-синтаз: эндотелиальной (eNOS), нейрональной (nNOS) и индуцибельной (iNOS).